

УДК 615.07:615.2:615.454.1:543.42
DOI: 10.15587/2519-4852.2017.104401

РОЗРОБКА МЕТОДИК КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ПРОКАЇНУ ГІДРОХЛОРИДУ ТА СУЛЬФАНІЛАМІДУ В СКЛАДІ БАГАТОКОМПОНЕНТНОЇ ЕКСТЕМПОРАЛЬНОЇ МАЗІ

© І. В. Безрук, В. О. Вракін, Л. П. Савченко, А. С. Матерієнко, В. А. Георгіянц

На сучасному фармацевтичному ринку спостерігається тенденція до відродження та розширення екстемпоральної рецептури. У зв'язку з цим виникає необхідність в розробці сучасних методів контролю якості та стабільності для даної групи лікарських засобів. Оскільки більшість лікарських форм є багатокомпонентними, вибір методик аналізу ускладнюється подібністю властивостей діючих компонентів.

Мета. Метою дослідження була розробка методів визначення прокаїну гідрохлориду та сульфаніламідів в багатокомпонентній мазі, яка виготовлена на основі 3 % тетрациклінової мазі заводського виробництва, з подальшою можливістю використання розроблених методик для вивчення стабільності препарату.

Методи. Спектрофотометрія для визначення прокаїну гідрохлориду та метод “Визначення первинної ароматичної аміногрупи” для аналізу сульфаніламідів.

Результати дослідження. Через неможливість розділення прокаїну гідрохлориду та сульфаніламідів під час проведення пробопідготовки, необхідно було розробити методику визначення одного з них з наступним визначенням їх суми. Для кількісного визначення прокаїну гідрохлориду пропонується використовувати метод спектрофотометрії за довжини хвилі 522 нм після утворення асоціату речовини з метиловим оранжевим. Для виключення впливу інших компонентів на поглинання прокаїну гідрохлориду були вивчені спектри інших речовин та їх суміші. Була досліджена лінійність прокаїну гідрохлориду в діапазоні застосування 80–120 % від номінальної концентрації в лікарській формі. Всі критерії лінійної залежності не перевищують допустимих значень за вимогами Державної Фармакопеї України.

Аналіз сульфаніламідів рекомендується проводити методом “Визначення первинної ароматичної групи” у відповідності до Державної Фармакопеї України, беручи до уваги розраховану кількість титранту, витраченого на титрування прокаїну гідрохлориду.

Висновки. Розроблені спектрофотометричний метод кількісного визначення прокаїну гідрохлориду та титриметричний метод аналізу сульфаніламідів. Були розраховані статистичні критерії отриманих результатів обох методів. Для прокаїну гідрохлориду відносна похибка складає 1.1 %, а для сульфаніламідів – 1.39, ці показники не перевищують допустимого критерію, що дозволяє рекомендувати запропоновані методи для аналізу мазі та вивчення її стабільності

Ключові слова: мазі аптечного виготовлення, спектрофотометрія, прокаїну гідрохлорид, сульфаніламід

1. Вступ

Для фармації та медицини поліпшення здоров'я населення є одним із пріоритетних завдань, а проблема надання ефективної та безпечної фармакотерапії стає все більш актуальною. Ліки, які виготовляються в умовах аптеки, дозволяють забезпечити принципово вищий рівень надання допомоги при лікуванні хвороб, ніж готові лікарські засоби. Це пояснюється наявністю певних переваг екстемпоральних лікарських форм. В першу чергу це відсутність консервантів, стабілізаторів, барвників, що можуть нести небезпеку для здоров'я людини. Також доцільно буде згадати, що при лікуванні хворих до кожного з них необхідно підходити індивідуально, що також можливо здійснити при використанні екстемпоральних ліків, оскільки при приготуванні фармацевт має змогу підбирати дози та склад лікарських речовин в залежності від стану пацієнта [1, 2].

2. Постановка проблеми у загальному вигляді, актуальність теми та її зв'язок з важливими науковими чи практичними питаннями

Забезпечення населення якісними та безпечними екстемпоральними ліками нерозривно пов'яза-

но з належним контролем їх якості, який регламентується вимогами Державної Фармакопеї України (ДФУ). На сьогоднішній день для екстемпоральних лікарських форм, які готуються про запас, повинні бути розроблені технологічні інструкції виготовлення з повним описанням методик їх аналізу. Крім цього, гостро стоїть питання необхідності вивчення їх стабільності з використанням тих же методик контролю якості для встановлення кінцевого строку придатності. За ДФУ термін придатності ліків, виготовлених в аптеках, становить 10 діб (за виключенням невеликого переліку лікарських форм). Даний термін може бути збільшений лише на основі проведених наукових досліджень. Вивчення стабільності препарату – єдиний шлях доказу того, що він відповідає критеріям, зазначеним в нормативних документах та дає можливість визначити тривалість збереження його якості та безпеки [3, 4]. Результати таких досліджень дозволяють визначити умови зберігання препарату, чутливість до вологості, світла, кисню, дії мікроорганізмів, оцінити вплив процесу виготовлення та упаковки на його якість, перевірити можливість взаємодії між діючими та допоміжними речовинами [4]. Питання вивчення стабільності екстемпоральних

препаратів широко обговорюється і в зарубіжних країнах, в тому числі і для ліків, виготовлених з використанням лікарських засобів заводського виробництва [5, 6].

Для більшості екстемпоральних лікарських форм в Україні відсутні дані по вивченню стабільності та встановленню термінів їх придатності.

3. Аналіз останніх досліджень і публікацій

Для кількісного аналізу сульфаніламідів застосовують метод “Визначення первинної ароматичної групи” [7, 8]. Ряд наукових робіт для кількісного визначення прокаїну гідрохлориду рекомендує використовувати адсорбуючу спектрофотометрію з утворенням асоціату. Одним із таких методів є утворення асоціату з п-бензохіноном [9]. Доведено, що він може бути використаний для визначення прокаїну гідрохлориду в концентрації 5,0–90,0 мкг/мл. В іншому випадку для аналізу прокаїну гідрохлориду використовують реакцію з алізариним червоним, яка проходить з утворенням асоціату, що дозволяє в подальшому провести екстракційно-фотометричне визначення речовини [10]. Крім того, запропонована методика прямого спектрофотометричного визначення прокаїну гідрохлориду в 0,5 % водному розчині, стабілізованому 0,1 М розчином кислоти хлористоводневої [11].

4. Виділення не вирішених раніше частин загальної проблеми, яким присвячена стаття

Проаналізувавши існуючу інформацію щодо методик аналізу прокаїну гідрохлориду та сульфаніламідів було встановлено відсутність розроблених методів їх кількісного визначення при сумісній присутності в одній лікарській формі.

5. Формулювання цілей (завдання) статті

Метою дослідження є розробка методик кількісного визначення вмісту прокаїну гідрохлориду та сульфаніламідів в складі екстемпоральної мазі з можливістю їх подальшого використання для дослідження стабільності препарату.

6. Виклад основного матеріалу дослідження (методів та об'єктів) з обґрунтуванням отриманих результатів

Об'єктом дослідження стала екстемпоральна мазь, яка готується про запас на основі мазі тетрациклінової 3 % заводського виробництва за наступним прописом:

Rp.: Streptocidi 1,0
Novocaini 0,5
Sulfuris 0,5
Ung. Tetracyclini 3% – 15,0
M. D. S.

В ході проведення експериментальних досліджень використовували: реактиви та допоміжні речовини, які відповідають вимогам ДФУ, аналітичні ваги Axis ANG200 (Польща) та мірний посуд класу А. Вимірювання оптичної густини проводили на спектрофотометрі Evolution 60S (USA).

Для визначення кількісного вмісту прокаїну гідрохлориду та сульфаніламідів ДФУ та Британська Фармакопея пропонують використовувати метод «Визначення первинних ароматичних амінів» [7, 8]. Але використання даного методу дослідження ускладнюється тим, що кожен з цих компонентів буде впливати на проведення аналізу іншого. З цієї ж причини практично неможливим є використання ацидиметричного або аргентометричного титрування, що водночас буде визначати прокаїну та тетрацикліну гідрохлориди, а аргентометрично за певних умов буде визначатись і сульфаніламід. Було здійснено спробу потенціометричного визначення інгредієнтів методом кислотно-основного титрування, але при цьому спостерігався тільки один стрибок потенціалу.

Розділити прокаїну гідрохлорид та сульфаніламід в процесі пробопідготовки не вдалося, тому виникла необхідність в розробці методики кількісного визначення, яка б дозволяла проводити аналіз одного з них з подальшим спільним визначенням нітриметричним титруванням.

Високомолекулярні органічні речовини можна визначати екстракційно-фотометричним методом, використовуючи в якості реактиву барвники. Зазначений метод використовують при визначенні речовини в складному прописі, коли інші компоненти суміші заважають проведенню аналізу. Також екстракційно-фотометричний метод часто використовують при визначенні малих концентрацій речовин, яких недостатньо для визначення їх світлопоглинання [9, 10]. Оскільки прокаїну гідрохлорид є безбарвною речовиною, його спектри поглинання знаходяться в УФ-області [11], але цей спектр не є специфічним, тому його небажано використовувати для кількісного визначення прокаїну гідрохлориду в багатоконпонентній лікарській формі.

З огляду на це, рекомендовано використання екстракційно-фотометричного методу для кількісного визначення прокаїну. Метод базується на утворенні в лужному середовищі асоціату новокаїну з метиловим оранжевим з його подальшою екстракцією. При вивченні підходів до пробопідготовки було встановлено, що найкращим екстрагентом для отриманого асоціату є хлороформ.

Для виключення впливу інших компонентів на поглинання прокаїну гідрохлориду в максимумі при 522 нм було вивчено характер поглинання всіх інгредієнтів пропису (рис. 1). Дослідження спектрів проводили за умов, що були закладені до методики визначення прокаїну гідрохлориду з утворенням асоціату для кожного компоненту мазі окремо, а також для їх суміші.

За результатами проведених експериментальних досліджень була розроблена наступна методика кількісного визначення прокаїну гідрохлориду: відважують 0,2 г мазі (точна наважка), розчиняють в 15 мл хлороформу Р, додають 1 мл метилового оранжевого Р; 1,5 мл 9 % розчину натрію гідрокарбонату та інтенсивно перемішують. Переносять отриманий розчин у ділільну лійку та проводять екстракцію. Хлороформний шар відокремлюють в мірну колбу ємністю 25 мл, додають 4 мл спиртового розчину 0,5 % сульфатної кислоти, до мітки доводять 96 % спиртом та фільтрують.

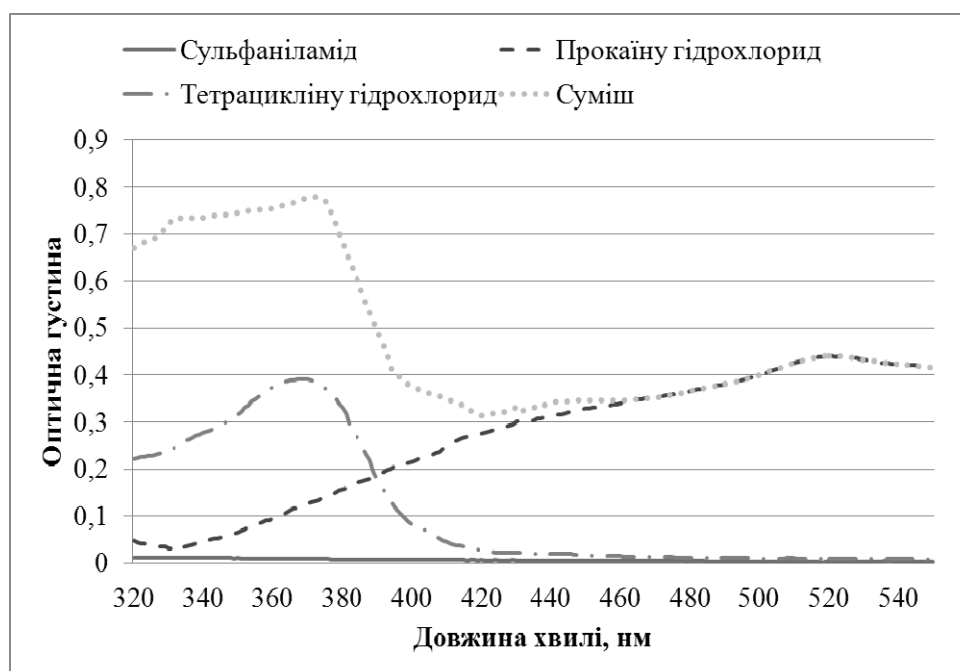


Рис. 1. Абсорбційні спектри поглинання сульфаніламід, прокаїну гідрохлориду, тетрацикліну гідрохлориду та їх суміші в інтервалі 320–550 нм

Розчин порівняння. 0,05 РСЗ або ФСЗ прокаїну гідрохлориду (точна наважка) поміщають в мірну колбу ємністю 100 мл, додають 50 мл води Р, розчиняють та доводять водою Р до позначки. Відбирають 5 мл отриманого розчину, до нього додають 10 мл води Р, 1 мл метилового оранжевого Р та 1,5 мл 9 % розчину натрію гідрокарбонату, інтенсивно перемішують. Екстрагують хлороформом, збираючи хлоро-

формний шар в мірну колбу ємністю 25 мл, додають 4 мл спиртового розчину 0,5 % сульфатної кислоти, до мітки доводять 96 % спиртом та проціджують.

Для доведення можливості використання даної методики для визначення кількісного вмісту прокаїну гідрохлориду в мазі був проведений аналіз шести наважок досліджуваної мазі з наступною статистичною обробкою отриманих результатів (табл. 1).

Таблиця 1

Результати кількісного визначення прокаїну гідрохлориду з використанням розробленої методики

№ досліду	Маса наважки мазі, г	Оптична густина, А	Кількість прокаїну г/х в мазі, г
1	0,2089	0,429	0,4877
2	0,1968	0,407	0,4911
3	0,1862	0,395	0,5038
4	0,2017	0,419	0,4933
5	0,1907	0,399	0,4968
6	0,2001	0,409	0,4854

Примітка: оптична густина в розчині ФСЗ прокаїну гідрохлориду (A_{cm}) 0,168; маса наважки ФСЗ прокаїну гідрохлориду (m_0) 0,0488 г; маса мазі 16,35 г

Результати статистичної обробки (табл. 2) свідчать про те, що відносна помилка розробленої методики кількісного визначення вмісту прокаїну гідрохлориду в пробі складає 1,1 %, що не перевищує від-

носної помилки спектрофотометричних визначень, тому запропонована методика може бути використана для визначення вмісту прокаїну гідрохлориду в складі досліджуваної мазі.

Таблиця 2

Метрологічна характеристика результатів аналізу

m	f	\bar{x}	S^2	S	S_x	$P, \%$	$t(P, f)$	$\Delta\bar{x}$	$\bar{\varepsilon}, \%$
6	5	0,4930	0,00004415	0,006645	0,002713	95	2,57	0,005466	1,11

Примітка: m – об'єм вибірки; f – число ступеней свободи; \bar{x} – середнє значення результатів; S^2 – дисперсія; S – середнє відхилення; S_x – стандартне відхилення середнього відхилення; P – довірчий інтервал; $\Delta\bar{x}$ – довірчий інтервал середнього результату; $t(P, f)$ – табличне значення критерію Стюдента; $\bar{\varepsilon}$ – відносна помилка середнього результату

Вивчення лінійної залежності оптичної густини від концентрації проводили на 9 модельних розчинах в діапазоні застосування методики, яка складає за рекомендаціями ДФУ для визначення кількісного вмісту діючої речовини в досліджуваній лікарській формі від 80 % до 120 % від номінального вмісту з кроком 5 % (табл. 3, рис. 2).

Дослідження проводили в нормалізованих координатах, подаючи концентрації та аналітичний сигнал в процентах до номінального значення, отримуючи величини

$$X_i = \frac{C_i}{C_{st}} \cdot 100 \% ; Y_i = \frac{A_i}{A_{st}} \cdot 100 \%$$

Таблиця 3

Оцінка лінійності методики кількісного визначення прокаїну гідрохлориду

Характеристика	Значення
Кутовий коефіцієнт лінійної залежності, b	0,9914
Sb	0,0086
Вільний член лінійної залежності, a	0,1767
Критичне значення для вільного члену a	1,63354
Sa	0,8622
Коефіцієнт кореляції, r	0,9997
Критерій лінійного коефіцієнту кореляції, Rc	0,9997

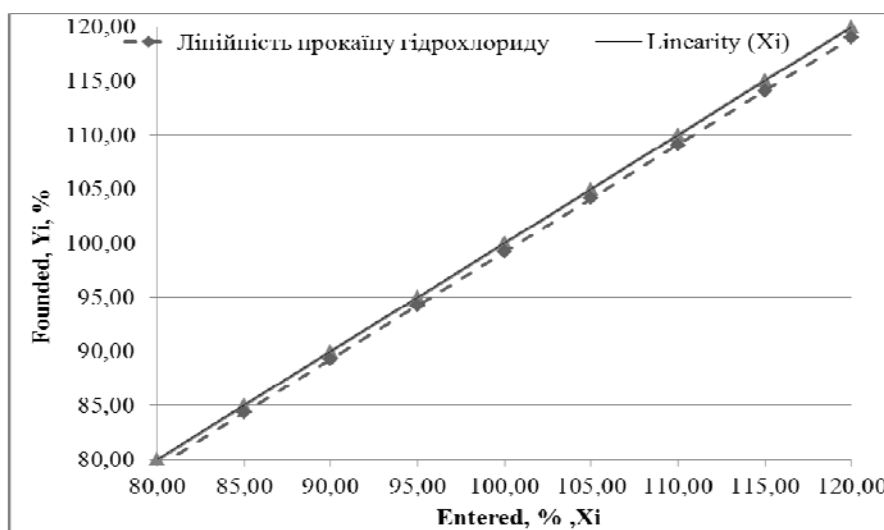


Рис. 2. Графік лінійної залежності оптичної густини від концентрації прокаїну гідрохлориду в нормалізованих координатах

Визначення суми сульфаніламідів та прокаїну гідрохлориду проводили методом «Визначення первинних ароматичних амінів». Кількісний вміст сульфаніламідів розраховується за різницею об'ємів титранту, що витрачено на титрування відповідно суми інгредієнтів та прокаїну гідрохлориду:

$$X = \frac{(V_{o.d.} - V_{к.д.} - V_{витр. на пр. з/х}) \cdot K_{NaNO_2 / \text{сульфаніламід}} \cdot m_{мазі}}{m_H}$$

Для аналізу кількісного вмісту сульфаніламідів запропонована наступна методика: 0,5 г мазі (точна наважка) розчиняють в 5 мл гексану Р, додають 70 мл води Р, 10 мл кислоти хлористоводневої розведеної, 1 г каїю бромиду та 5–6 крапель нейтрального червоного, після чого титрують 0,1 М розчином натрію нітриту до переходу червоного забарвлення в синє.

Для отримання достовірних результатів проводили шість паралельних досліджень та отриманні дані обробляли статистично (табл. 4, 5).

Таблиця 4

Результати кількісного визначення сульфаніламідів з використанням представленої методики

№ дослідів	Маса наважки мазі, г	Об'єм титранту, мл	Знайдено сульфаніламідів в мазі, г
1	0,4996	2,80	0,9879
2	0,5028	2,80	0,9793
3	0,4805	2,70	0,9831
4	0,5061	2,90	1,0262
5	0,4964	2,80	0,9967
6	0,4964	2,80	0,9967

Примітка: титр сульфаніламідів складає 0,01722 г/л

Таблиця 5

Метрологічна характеристика результатів аналізу

m	f	\bar{x}	S^2	S	S_x	P, %	t(P, f)	Δx	$\bar{\varepsilon}$, %
6	5	0,9933	0,0002831	0,01682	0,006869	95	2,57	0,01384	1,39

При проведенні розрахунків було встановлено, що відносна похибка аналізу складає 1,39 %. Це свідчить про можливість використання розробленої методики для визначення кількісного вмісту сульфаміду в присутності прокаїну гідрохлориду в складі багатокомпонентної екстемпоральної мазі.

7. Висновки з проведеного дослідження і перспективи подальшого розвитку даного напрямку

1. Розроблені та досліджені методики спектрофотометричного кількісного визначення прокаїну

гідрохлориду за утворенням асоціату з метиловим оранжевим та титриметричного визначення сульфаміду в складі багатокомпонентної екстемпоральної мазі, виготовленої на основі мазі тетрациклінової заводського виробництва.

2. Було встановлено, що метрологічні характеристики розроблених методик не перевищують максимально допустимих значень критеріїв, тому вони можуть бути використані як для визначення кількісного вмісту обох компонентів в мазі, так і для дослідження її стабільності в процесі зберігання.

Література

1. Carvalho, M. Current Compounding Practices in Europe [Text] / M. Carvalho, C. Tuleu, K. Taylor // International Journal Pharmaceutical Compounding. – 2008. – Vol. 2. – P. 94–99.
2. Falconer, J. R. Extemporaneously compounded medicines [Text] / J. R. Falconer // Australian Prescriber. – 2017. – Vol. 40. – P. 5–8. doi: 10.18773/austprescr.2017.001
3. Panda, A. Stability studies: an integral part of drug development process [Text] / A. Panda, S. Kulkarni, R. Tiwari // International Journal of Pharmaceutical Research and Bio-Science. – 2013. – Vol. 2, Issue 6. – P. 69–80.
4. Bajaj, S. Stability testing of pharmaceutical products [Text] / S. Bajaj, D. Singla, N. Sakhuja // Journal of Applied Pharmaceutical Science. – 2012. – Vol. 02, Issue 03. – P. 129–138.
5. Haywood, A. Liquid dosage forms extemporaneously prepared from commercially available products – considering new evidence on stability [Text] / A. Haywood, B. D. Glass // Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. – 2013. – Vol. 16, Issue 3. – P. 441–455. doi: 10.18433/j38887
6. Allen, V. L. Compounding, stability and beyond-use dates [Electronic resource] / V. L. Allen // Secundum artem. – Vol. 7, Issue 3. – Available at: <http://www.perrigo.com/business/pdfs/Sec%20Artem%207.3.pdf>
7. Державна Фармакопея України. Т. 2. ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». [Текст] – Х.: ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014. – 724 с.
8. British Pharmacopoeia [Text]. – L.: The Stationery Office, 2012.
9. Amin, A. S. Colorimetric determination of benzocaine, lignocaine and procaine hydrochlorides in pure form and in pharmaceutical formulations using p-benzoquinone [Text] / A. S. Amin, A. M. El-Didamony // Analytical Science. – 2003. – Vol. 19, Issue 10. – P. 1457–1459. doi: 10.2116/analsci.19.1457
10. Иванов, В. М. Ализариновый красный как окрашенный реагент для экстракционно-фотометрического и фотометрического определения некоторых местноанестезирующих органических оснований [Текст] / В. М. Иванов, Е. М. Адамова, В. Н. Фигуровская // Журнал аналитической химии. – 2010. – Т. 65, № 9. – С. 934–942.
11. Георгиянц, В. А. Применение метода спектрофотометрии для количественного определения прокаина гидрохлорида в лекарственных формах аптечного изготовления [Текст] / В. А. Георгиянц, О. А. Евтифеева, Л. П. Савченко, Е. И. Бисага // Запорожский медицинский журнал. – 2007. – № 2. – С. 129–133.

Дата надходження рукопису 19.04.2017

Безрук Іван Володимирович, кафедра фармацевтичної хімії, Національний фармацевтичний університет, вул. Пушкінська, 53, м. Харків, Україна, 61002
E-mail: ivan.bezruk@gmail.com

Вракін Валентин Олексійович, кафедра фармацевтичної хімії, Національний фармацевтичний університет, вул. Пушкінська, 53, м. Харків, Україна, 61002
E-mail: valentin@gmail.com

Савченко Леся Петрівна, кандидат фармацевтичних наук, доцент, кафедра якості, стандартизації та сертифікації ліків, Інститут підвищення кваліфікації спеціалістів фармації, Національний фармацевтичний університет, вул. Пушкінська, 53, м. Харків, Україна, 61002
E-mail: savchenkolesia@gmail.com

Матерієнко Анна Сергіївна, кандидат фармацевтичних наук, асистент, кафедра фармацевтичної хімії, Національний фармацевтичний університет, вул. Пушкінська, 53, м. Харків, Україна, 61002
E-mail: anna.materienko@gmail.com

Георгіянц Вікторія Акопівна, доктор фармацевтичних наук, професор, кафедра фармацевтичної хімії, Національний фармацевтичний університет, вул. Пушкінська, 53, м. Харків, Україна, 61002